

150

**Untersuchungen über die Zirkulationskinetik
der Lymphozyten bei chronischer Lymphadenose
und ihre Veränderung
nach Einwirkung von Gammastrahlen**

Bianca M. Helmbrecht

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der I. Medizinischen Abteilung,
Städtisches Krankenhaus München-Schwabing
Direktor: Prof.Dr.med.H.Begemann

Untersuchungen über die Zirkulationskinetik der
Lymphozyten bei chronischer Lymphadenose und ihre
Veränderung nach Einwirkung von Gammastrahlen.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Bianca M. Helmbrecht
München
1975

Berichterstatter: Prof.Dr.Begemann

Mitberichterstatter: Prof.Dr.Buchborn

Dekan: Prof. Dr.Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 14.10.75



INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1	Einleitung
2	Material und Methoden
2	1)Patient B.F.
6	2)Patient D.H.
9	3)Markierung und Retransfusion
9	4)Strahlerretransfusion
10	5)Praeparation und Autoradiographie
10	6)Auswertungsmodus
12	Theorie und Kritik der Methode
15	Ergebnisse und Interpretation
15	1)B.F. Retransfusion vor Therapie
23	2)B.F. Strahlerretransfusion vor Therapie
27	3)B.F. Retransfusion nach Therapie
28	4)B.F. Strahlerretransfusion nach Therapie
31	5)D.H. Ausgangsretransfusion
32	6)D.H. Strahlerretransfusion
37	Diskussion
37	1)Zirkulationskinetik der Lymphozyten bei chronischer Lymphadenose
40	2)Effekt der extrakorporalen Blut- Bestrahlung auf die verschiedenen Lymphozytenspeicher
43	3)Strahlensensibilität und Strahlen- selektion von CLL-Lymphozyten
47	Zusammenfassung
I-V	Literatur

EINLEITUNG

Die Vermehrung von Lymphozyten bestimmt das Krankheitsbild und den Krankheitsverlauf der chronischen lymphatischen Leukämie (4). Neben Proliferations- und Abbaustörung (48,36) gibt es Hinweise auf einen gestörten Austausch der zirkulierenden Lymphozyten mit extravasalen Lymphozytenspeichern (6,27). Die daraus resultierende Anhäufung der pathognomonischen Zellen in der Strombahn (27) veranlaßte in jüngster Zeit Therapieversuche mit extracorporaler Bestrahlung des Blutes (5,49,46).

Es war das Ziel des vorliegenden Ansatzes bei zwei Patienten mit chronischer Lymphadenose die Speichergrößen für zirkulierende und mit ihnen extravasal im Austausch stehende Lymphozyten zu bestimmen sowie deren Ansprechen auf eine definierte Strahlendosis und die Veränderung der Speichergrößen nach extracorporaler Blutbestrahlung zu untersuchen.

Neben einem Beitrag zur Kenntnis des Zirkulationsverhaltens und der Strahlensensibilität der Lymphozyten bei chronischer Lymphadenose sollte damit die klinische Frage beantwortet werden, inwieweit die extracorporale Blutbestrahlung zu einer Depletion der nicht zirkulierenden Lymphozytenmassen geeignet ist.

MATERIAL UND METHODEN

1.) Patientin B. F.:

Es handelte sich um eine zum Zeitpunkt der Untersuchung (Oktober 1970) 68-jährige Patientin.

a) Anamnese: 1966 war in einer auswärtigen Klinik die Diagnose einer chronischen lymphatischen Leukämie gestellt worden. Im gleichen Jahre erfolgte die Bestrahlung des Mediastinums und die Applikation von 200 mg Cyclophosphamid täglich über einige Monate. 1968 entwickelte sich eine hochgradige Anämie, die sich auf Chlorambuzil- und Prednisonmedikation besserte, so daß bis Anfang 1970 relative Beschwerdefreiheit bestand. Im August 1970 trat rezidivierendes Nasenbluten auf; es wurde eine neuerliche Prednisonbehandlung bei gleichzeitigem Einsatz von Actinomycin-C (200 mg/Tag) zwei Wochen lang durchgeführt. Da darunter ein deutlicher Leukozytenanstieg von 14000 auf 100000/mm³ erfolgte, wurde die Patientin uns zur depletorischen Behandlung zuverlegt.

b) Klinischer Befund: Die Patientin bot am 1.10.1970 einen stark reduzierten Allgemeinzustand. Im Vordergrund standen eine fahle Blässe von Haut und Schleimhäuten sowie diffuse Sugillationen an Ober- und Unterschenkeln und am Rücken. Man tastete in beiden Achseln drei bis fünf kirsch- bis pflaumengroße relativ weiche und indolente Knoten und im Nacken einzelne kirschgroße Lymphome. Die Milz war palpatorisch derb 6 cm unter dem Rippenbogen festzustellen, die Leber stand in der vorderen Axillarlinie 6 cm unter dem Rippenbogen.

Die Herzaktion war rhythmisch, der Blutdruck betrug 160/80.

c) Technische Untersuchungen: Auf der Thoraxaufnahme zeigte sich ein linksbetontes Herz und Zeichen einer Aortensklerose. Die Hili ließen sich gefäßtypisch differenzieren.

Die Milzszintigraphie mit Hg 197 BMHP wies eine erhebliche Vergrößerung des Organs mit einer seitlichen Fläche von 184 cm^2 nach; dabei bestand diffuse Auflockerung des Speicherungsmusters. Das Blutvolumen betrug in der J^{131} -Albuminbestimmung 3,98 l.

d) Laborbefunde: Hb 9,8 g%, Erythrozyten 2,75 Millionen/ mm^3 , Hb_E 35,6 pg. Leukozyten 86000/ mm^3 . Differentialverteilung: 96 % Lymphozyten, 3 % segmentkernige neutrophile Granulozyten, 1 % eosinophile Granulozyten. Thrombozyten 10000/ mm^3 . Retikulozyten um 10 %.

Das Knochenmark zeigte ein monotones Bild; 185 von 200 Zellen waren Lymphozyten, wobei sich neben kleinen reifen nur ganz selten unreifere Formen fanden. Erythro-, Granulo- und Thrombozytopoese waren entsprechend extrem reduziert.

Unter den humoralen Befunden war die BKS auf 22/42 mm beschleunigt. In der Elektrophorese stellte sich bei einem Gesamteiweiß von 5,1 g% eine noch normale Verteilung dar: 59,8 %/2,9 %/8,8 %/11,8 %/16,7 %. In der qualitativen Immunelektrophorese zeigte sich eine geringe Abschwächung der Präzipitationslinien von IgM. Hinweise auf Para-

proteinämie fehlten. Der direkte und indirekte Coombs-Test waren negativ. Harnstoff, Kreatinin, Harnsäure und Elektrolyte waren im Normbereich. Serumeisen $94 \mu\text{g}\%$, Serumkupfer $187 \mu\text{g}\%$. Unter den Transaminasen war die SGPT zeitweise auf 35 i.E./l erhöht. Die Blutzuckertagesprofilwerte boten postprandial Erhöhungen bis auf $280 \text{ mg}\%$.

e) Therapie und Verlauf, Zeitpunkt der Untersuchungen:

Zur Durchführung einer extracorporalen Blutbestrahlung wurde zunächst am linken Unterarm ein arteriovenöser Teflon-Shunt (Scribner)implantiert. Nach der reizlosen Einheilung erfolgte die erste Retransfusionsuntersuchung A (13.10. bis 27.10.70) und anschließend die Strahlerretransfusion AS (28.10. bis 2.11.70).

Danach begann eine extracorporale Blutbestrahlungsreihe, bei der über eine Co^{90} -Quelle pro Sitzung bei einer Transiddosis von 200 rd 18 l Blut im Sinne von etwa vier Blutvolumenäquivalenten bestrahlt wurden. Daraus ergab sich für die Einzelzelle eine maximale Strahlenbelastung von 800 rd . Bereits nach fünf derartigen Sitzungen waren die Leukozyten auf $15000/\text{mm}^3$, nach weiteren fünf Sitzungen auf $4000/\text{mm}^3$ abgefallen. Die Erythrozyten- und Thrombozytenwerte zeigten ebenfalls leicht sinkende Tendenz. Gleichzeitig wurde eine merkliche Zunahme der Milzgröße auf 15 cm unter dem Rippenbogen festgestellt. Daher wurde die extracorporale Blutbestrahlung abgebrochen. Fünf Tage nach der letzten Bestrahlung wurde die Kontrollretransfusion (BAB vom 24.11. bis 4.12.) und die zweite Strah-

lerretransfusion (BABS vom 7.12. bis 13.12.) durchgeführt.

Wegen der im Vordergrund stehenden Splenomegalie mit Hyperspleniesymptomatik wurde bei auftransfundiertem Hb-Wert von 10 g%, 4000 Leukozyten mit 65 % Lymphozyten und 8000 Thrombozyten/mm³ eine Milzbestrahlungsserie mit 20 RMD Einzeldosis über insgesamt 20 Tage abgeschlossen. Diese Maßnahme brachte zwar eine Reduktion der Milzgröße um die Hälfte, jedoch keine Beeinflussung der Pancytopenie; auf Suprarenin erfolgte kein Thrombozytenanstieg. Im weiteren Verlauf ließen sich die Werte auch durch Steroid-Medikation nicht wesentlich beeinflussen. Innerhalb eines halben Jahres stiegen die Leukozytenwerte wieder auf 70000 und ließen sich durch sieben Blutbestrahlungs-sitzungen abermals auf 10000 senken. Thrombopenie, Anämie und Infektneigung beherrschten aber zunehmend das Krankheitsbild. Es kam zu einer unstillbaren hämorrhagischen Cystitis, die nur durch häufige Bluttransfusionen zu beherrschen war. Durch Sturz zog sich die Patientin eine Schenkelhalsfraktur und schwere Blutung in die Weichteile zu; nach operativer Versorgung verfiel sie und erlag am 21.12.71 einem Herz-Kreislaufversagen.

2.) Patient D. H.:

Es handelte sich um einen zum Zeitpunkt der Untersuchung 53-jährigen Patienten.

a) Anamnese: Nach einer Splitterverletzung der Lunge im 2. Weltkrieg hatte sich eine chronische Bronchitis, die seit 15 Jahren zur Diagnose einer chronischen Emphysebronchitis Anlaß gab, eingestellt. 1964 wurde anhand einer Leukozytose von 25000 bei 80 % Lymphozyten und einer typischen Infiltration der Leber eine chronische Lymphadenose diagnostiziert. Von 1967 bis 1969 stand der Patient unter niedrig dosierter Leukeran-Dauertherapie. 1969 zeigte sich in raschem Aufschließen ubiquitärer Lymphome und einem Anstieg der Leuko-Lymphozytose auf $100000/\text{mm}^3$ eine stärkere Progredienz an. Daher wurde eine kontinuierliche extracorporale Bestrahlung des Blutes über eine Strontiumquelle durchgeführt, worunter innerhalb von zwei Monaten die Leukozyten von 100000 auf 30000 abfielen. Es entwickelte sich jedoch danach ein rascher Neuanstieg; innerhalb von acht Monaten hatten die Leukozytenwerte wieder 150000 bei gleichzeitigem Abfall von Thrombozyten und Hämoglobin erreicht.

b) Klinischer Befund: Zum Zeitpunkt der Untersuchungen (September 1970) adipöser, leicht dyspnoischer Patient. Man palpizierte in allen Lymphknotenstationen hühnereigroße, weiche und indolente Lymphome. Die Milz stand 8 cm derb unter dem Rippenbogen, die Leber schien palpatorisch um Handbreite vergrößert. In der Lunge waren spastische Zeichen zu auskultieren. Die Herzaktivität war rhythmisch, der RR lag bei 160/90.

c) Technische Untersuchungen: Die Thoraxaufnahme wies schwartig-indurative Veränderungen im Bereich des rechten Unter- und Mittelfeldes nach; die Herzkontur schien mäßig rechtsdilatiert. Die Milzszintigraphie wies eine Vergrößerung dieses Organs auf etwa das Doppelte der oberen Norm bei mäßiger Strukturauflockerung nach.

d) Laborbefunde: Hb 10,5 g%, Erythrozyten $3,74 \text{ Millionen/mm}^3$, Hb_E 38,1 pg. Leukozyten $143000/\text{mm}^3$, davon 98 % Lymphozyten und 2 % segmentkernige neutrophile Granulozyten. Thrombozyten $51000/\text{mm}^3$, Retikulozyten um 15 %. Das Knochenmark bot bei relativer Zellarmut ein extremes Überwiegen von Lymphozyten (170/200 Knochenmarkszellen), die zum Teil größere und unreifere Formen umfaßten. Entsprechend waren die hämatopoetischen Zellfraktionen reduziert. Die BKS war mit 4/8 nicht beschleunigt. Dem entsprach eine ausgeprägte Hypogammaglobulinämie von 5,5 % bei 5,8 g% Gesamteiweiß. In der qualitativen Immunelektrophorese waren die Präzipitationslinien sämtlicher Ig-Fractionen abgeschwächt. Es ergab sich kein Anhalt für Paraprotein. Die übrigen blutchemischen Befunde, insbesondere die Transaminasen und harnpflichtigen Substanzen waren unauffällig.

e) Therapie und Verlauf, Zeitpunkt der Untersuchungen: Zur Vorbereitung einer neuerlichen extracorporalen Blutbestrahlung wurde am 3.9.1970 ein arterio-venöser Shunt (nach Cimino) am rechten Unterarm angelegt. Danach erfolgte die erste Retransfusionsuntersuchung

(14.9.70 bis 29.9.70). Der Patient stand zu der Zeit neben cardiotonischer Medikation lediglich unter 10 mg Fluomethyl-desoxycorticosterol. Danach erfolgte wegen Thrombosierung eine Shuntrevision, so daß die Strahlerretransfusion erst vom 30.10. bis 4.11.70 angeschlossen werden konnte. Direkt anschließend wurde eine diskontinuierliche extracorporale Blutbestrahlungsserie begonnen, bei der pro Sitzung vier Blutvolumenäquivalente mit einer Transitedosis von 200 rd bestrahlt wurden. In 15 Sitzungen innerhalb von 3 Wochen ließ sich ein Rückgang der Leukozytose von 70000 auf 20000 erzielen. Die Lymphome zeigten jedoch während der Bestrahlung weitere Wachstumstendenz und auch die Milz nahm weiter an Größe zu. Positiv war ein Anstieg der Thrombozytenwerte, darunter kam es jedoch zu erneuter, irreversibler Thrombosierung des Shunts.

Der weitere Verlauf war durch rasche Progredienz der lymphatischen Expansion mit erneuten Leukozytenwerten um 100000 nach 3 Monaten, zunehmender Thrombozytopenie und rezidivierenden bronchopneumonischen Infekten gekennzeichnet. Daher waren Kontrolluntersuchungen nicht möglich. Durch eine Milzbestrahlungsserie ließ sich zwar abermals ein Rückgang der Lymphozytenwerte auf 20000/mm³ erreichen, Anämie und Thrombopenie und insbesondere die Infektneigung nahmen aber weiter zu. Eine linksseitige Lungenembolie führte schließlich zum Exitus letalis am 18.5.71 unter den Zeichen eines Rechtsherzversagens.

3.) Markierung und Retransfusion

Zu den oben angegebenen Terminen wurden 500 ml Venenblut der Patientin in einem Transfusionsbeutel (Fenwal-Transfer-Pack, TA-4, Travenol, München) gesammelt; zur Antikoagulation waren 80 ml ACD (Formel A) zugesetzt. Unmittelbar nach Abschluß der Blutentnahme wurde 10 mCi ³H-Cytidin^x mit der spezifischen Aktivität von 2,1 Ci/mM in den Beutel injiziert und derselbe unter ständigem Schütteln bei 37° für genau 3 Stunden inkubiert. Danach wurden zur tausendfachen Verdünnung des radioaktiven Cytidins 100 mg unmarkierten "kalten" Cytidins zugesetzt und der Beutelinhalt innerhalb von 10 Minuten dem Patienten retransfundierte. Zu Anfang und zu Ende der Retransfusion erfolgten 2 Blutabnahmen aus dem Beutel zur Bestimmung der Primärmarkierung der infundierten Zellen. Danach wurden aus der kontralateralen Cubitalvene während der ersten Stunde in zehnminütigen, danach in stündlichen, vom 2. Tag in sechsstündlichen und vom 5. Tag an in zwölfstündlichen Abständen Blutproben entnommen.

4.) Strahlerretransfusion

Die Modifikation des beschriebenen Retransfusionsverfahrens in der sogen. Strahlerretransfusion bestand zu den angegebenen Zeitpunkten lediglich darin, daß der Beutelinhalt durch eine Co⁹⁰-Quelle unter den Kautelen des extracorporalen Kreislaufes mit gesteuerter Durchlaufzeit, wie er für die Blutbe-

^xRadiochemical Centre Amersham/Großbritannien

strahlung verwendet wird (4) geleitet wurde und so die Zellen erst nach Verabfolgung einer Transitdosis von 250 rd den Kreislauf des Patienten wieder erreichten.

5.) Präparation und Autoradiographie.

Von jeder der entnommenen Blutproben wurde die Leukozytenzahl und der prozentuale Anteil der Lymphozyten bestimmt. Ausstriche wurden in der üblichen Vollblutmethode und in Form von Leukozytenkonzentraten nach Sedimentierung der Erythrozyten mit EDTA-Gelatine und Zentrifugation des leukozytenreichen Plasmaüberstandes angefertigt. Ihre Fixation erfolgte 30 Minuten lang in dreimal gewechseltem 100 %igem Methanol. Danach wurden die Objektträger mit Kodak-AR-10-Stripping-Filmen autoradiographiert. Die Expositionszeit wurde durch häufige Probeentwicklungen so variiert, daß mindestens 95 % der aus dem Inkubationsbeutel gewonnenen kleinen Lymphozyten über 10 Körner aufwiesen. Dies war nach durchschnittlich 120 Tagen erreicht. Nach der Entwicklung der autoradiographierten Präparate wurden sie mit 2 %iger Giemsa-Lösung bei pH 5,7 gefärbt.

6.) Auswertungsmodus

Bei der Auswertung wurden nur kleine Lymphozyten berücksichtigt, deren Größe bei einem hundertfachen Ölimmersionsobjektiv und einem achtfachen Okular einen Kerndurchmesser von $8,5 \mu$ nicht überschritt. Auf eine entsprechende zellfreie

Fläche entfielen im Durchschnitt 5 Körnchen "unspezifischer" Hintergrundmarkierung. Um einen sicheren Abstand zu haben, wurde daher eine Zelle als markiert gewertet, die 10 und mehr Silberkörnchen über dem Kern trug; die Anzahl der Körnchen wurde als Markierungsintensität verzeichnet.

Zur Ermittlung des Markierungsindex wurden jeweils 1000 kleine Lymphozyten ausgezählt und von diesen der Anteil mit Kernmarkierung über der angegebenen Hintergrundgrenze bestimmt. Sofern es die Höhe des Markierungsindex und die Dichte des Ausstrichs zuließen, wurden anschließend die markierten kleinen Lymphozyten auf mindestens 50 ergänzt und ihre Kornzahlen nach Kern und Plasma getrennt bestimmt.

THEORIE UND KRITIK DER METHODE

- 1.) Cytidin, an Ribose gebundenes Cytosin darf in unserem Ansatz als relativ spezifischer Vorläufer der RNS-Synthese angesehen werden, da es in der Zeitgrößenordnung des gewählten Ansatzes nur zu 5 % in DNS incorporiert wird (20) und speziell bei Lymphozyten keinerlei nachweisbare Markierung der Desoxyribonnucleinsäure bewirkt (10). In seiner tritierten Form ließ es sich schon nach zweistündiger Einwirkungsdauer in 80 - 100 % normaler und chronisch lymphadenotischer Lymphozyten nachweisen (22).

Die Methode der Transfusion ^3H -Cytidin-markierter autologer Blutlymphozyten gestattete in einer Reihe von Studien, speziell bei chronischer Lymphadenose eine Verfolgung der Zellen bis zu 10 Tagen (10,16,22).

- 2.) Allerdings liegt ein Problem in der Möglichkeit von in vivo - Utilisation von ^3H -Cytidin. Nach einstündiger Inkubation enthalten die Leukozyten nur 1 - 5 % der Aktivität (44). Über 90 % davon gehört zum leichtlöslichen pool (11,41). Dieser wird durch Methanol-fixation, wie wir sie anwandten, entfernt (19), daher gibt die Autoradiographie die Aktivität wieder, die in den Makromolekülen der Zelle gebunden ist. Die Markierungsintensität hängt so von der Konzentration von

^3H -Cytidin im löslichen pool ab. Dieser tauscht nur langsam mit der extrazellulären Flüssigkeit aus (26,35) und enthält noch zwei Stunden nach Ende der ^3H -Cytidin-Exposition vier Fünftel seiner ursprünglichen maximalen Aktivität (41). Obwohl bei der von uns gewählten dreistündigen Inkubation die nicht löslichen pools weitgehend abgesättigt sind (39), scheint ein Anstieg der Markierungsintensität in den ersten Stunden nach Retransfusion theoretisch möglich.

Eine Bewertung der realen Zellverteilung an Hand des Markierungsindex wird so in den Stunden nach Stabilisierung der Markierungsintensität (in der Regel von der zweiten Stunde an) sinnvoll sein.

- 3.) Der RNS-Katabolismus setzt erst merklich nach 24 Stunden ein und verläuft sehr protrahiert (8,22). Ein Abfall des Markierungsindex vor dieser Zeit kann nicht durch Markierungsverlust erklärt werden, sondern wird als reale Abwanderung markierter Zellen aus der Zirkulation interpretiert (23,12,39).
- 4.) Als idealer Termin zur Kalkulation der Zirkulations- und Abwanderungsgrößen bietet sich so der früheste Zeitraum an, in dem kein weiterer Anstieg und kein Abfall der Markierungsintensität und des Markierungsindex

erfolgt. Dies ist in den meisten Studien (39,10) von der vollendeten ersten bis zur vierten Stunde nach Retransfusion der Fall. Bei fraglichen Verläufen mit nicht deutlichem Equilibrium in diesem Zeitraum werden durch isolierte Betrachtung der markierten Zellgruppe Reutilisations- und Katabolisierungsfehler in der Markierungsbewertung vermieden (39).

- 5.) Eine entscheidende Voraussetzung der Interpretierbarkeit von Markierungsverläufen besteht darin, daß die Zellen durch das Markierungsverfahren in ihren vitalen Eigenschaften nicht beeinträchtigt wurden. Hierzu kann daraufhingewiesen werden, daß Variationen zwischen ein- und vierstündiger Inkubation keine Änderung der Eliminationsrate hervorriefen (10), daß die Lymphozyten während und nach vierstündiger Inkubation eine konstante RNS-Syntheserate aufweisen (7) und daß der Trypanblautest über 95 % der Lymphozyten bei dieser Methode voll vital zeigte (10).

Die Markierung mit ^3H -Cytidin verwendet im Gegensatz zum Verfahren mit Cr^{51} (25) eine physiologische Markierungssubstanz, die durch Koppelung an einen weichen Beta-Strahler die autoradiographische Auswertung auf zellulärer Ebene erlaubt.

ERGEBNISSE UND INTERPRETATION

Patientin B.F., Retransfusion vor Therapie (= BF-A)

Der Verlauf des Markierungsindex kleiner Lymphozyten nach Retransfusion wurde graphisch durch Auftragen des Promille-Anteils markierter kleiner Lymphozyten zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten in Abbildung 1 dargestellt.

Die bereits fünf Minuten nach Ende der Retransfusion festgestellten Markierungsindizes liegen bei 4,4 %. Danach folgt innerhalb von zwanzig Minuten ein steiler Abfall auf die Hälfte dieses Wertes; nach einem kurzen Neuanstieg stellt sich in den nächsten Stunden ein Niveau um 2 - 3 % ein, das sich bis zum 6. Tag ohne eindeutiges Absinken hält.

Die sich rechnerisch ergebenden Werte sind in der Tabelle aufgeführt. Aus einer retransfundierten Blutmenge von 520 ml und einer Lymphozytenzahl von $91400/\text{mm}^3$ sowie einem mittleren Markierungsindex der Proben des drei Stunden inkubierten Beutels von 90 % der Lymphozyten errechnet sich 43×10^9 markierte übertragene Lymphozyten. Die Gesamtzahl zirkulierender Lymphozyten (= zirkulierender Lymphozytenspeicher ZLS) der Patientin zum Zeitpunkt dieser ersten Retransfusion beträgt bei einem Blutvolumen von 4000 ml demnach $36,6 \times 10^{10}$.

Bei einer einfachen Mischung der übertragenen markierten Lymphozyten in der Gesamtzahl der Patienten-

Re- trans- fusion	Lympho- cytenzahl/ mm ³ Blut	Blut- volumen	irkul. Lym- phocyten- speicher (ZLS)
BF-A	91 400	4 000	35,8 x 10 ¹⁰
BF-AS	28.000	4.000	11,2 x 10 ¹⁰
BF-B	3.770	4.000	1,5 x 10 ¹⁰
BF-BS	2.890	4.000	1,1 x 10 ¹⁰
DH-A	94.000	6.000	56 x 10 ¹⁰
DH-AS	63.650	6.000	38 x 10 ¹⁰

	Mittlerer Markierungs- index (%) im Transfusions- beutel	Retrans- fundierte Blutmenge (ml)	Anzahl mar- kierter über- tragener Lymphocyten
BF-A	90	520	43 x 10 ⁹
BF-AS	95	500	13,3 x 10 ⁹
BF-B	92	495	1,7 x 10 ⁹
BF-BS	94	500	1,3 x 10 ⁹
DH-A	99	540	50 x 10 ⁹
DH-AS	100	550	35 x 10 ⁹

	Markierungs- index als Mit- telwert der Stunden 1-4(%)	Anzahl mark- ierter Lym- phocyten im zirkulier- enden Blut	Leicht aus- tauschbarer Lymphocyten- speicher (LALS)
BF-A	2,8	102,5 x 10 ⁸	153 x 10 ¹⁰
BF-AS	2,8	31,4 x 10 ⁸	47 x 10 ¹⁰
BF-B	0,25	0,377 x 10 ⁸	69 x 10 ¹⁰
BF-BS	0,22	0,249 x 10 ⁸	60 x 10 ¹⁰
DH-A	2,1	117,6 x 10 ⁸	240 x 10 ¹⁰
DH-AS	1	38 x 10 ⁸	350 x 10 ¹⁰

Re- trans- fusion	<u>LALS</u> <u>ZLS</u>	% Anteil trans- fundierter markier- ter Lymphocyten im Blut (Mittelwert 1-4h) ("recovery")
BF-A	4,2	24
BF-AS	4,2	24
BF-B	45,7	2,19
BF-BS	53	1,9
DH-A	4	23
DH-AS	9	10

lymphozyten in einem geschlossenen System wäre ein Prozentanteil markierter Zellen $43 \times 10^9 : 36,6 \times 10^{10} = 11,7 \%$ zu erwarten. Der dem gegenüber bereits fünf Minuten nach Ende der Retransfusion gefundene Wert von nur 5 % weist auf rasche Verdünnung innerhalb eines größeren Lymphozytenspeichers als ihn der zirkulierende Lymphozytenspeicher allein darstellt hin. Man kann für einen derartigen Zellspeicher mit dem die zirkulierenden Lymphozyten in initialem Ausgleich stehen aus der gezeigten Differenz zwischen Erwartungswert und realem frühesten Markierungsindex und der Berücksichtigung der Retransfusionszeit als oberen Schätzwert kalkulieren, daß er zweimal so groß ist wie der ZLS. Der nicht zirkulierende Anteil dieses Speichers ist vermutlich intravasculär, randständig und wird als "Marginaler Lymphozytenspeicher = MLS (2¹) bezeichnet; MLS und ZLS wären als Unterabteilungen des gesamten intravasculären Speichers zu betrachten. Nach obigen Werten sind beide Abteilungen hier gleich groß zu veranschlagen.

Die nächste Phase steilen Abfalls des Markierungsindex innerhalb der ersten Stunde nach Retransfusionsende bedeutet unter den oben belegten Voraussetzungen ein Abwandern markierter Zellen aus der Zirkulation und ihren Ersatz durch unmarkierte. Die alternative Möglichkeit, daß es sich um Verlust von Markierung aus Zellen und so ein Absinken in den Hintergrund unspezifischer Markierung handle, ist bei dem sehr langsamen Absinken der Markierungsintensität (vergleiche Abbildung 3) ausgeschlossen,

wie auch andere Beobachtungen belegen (8,6). Diese progressive Abwanderung findet vermutlich in extravasculäre Speicher statt. Belege dafür gibt das Antreffen markierter Lymphozyten 1,5 bis 4,5 Stunden nach Retransfusion extravasculär in Lymphknoten und Knochenmark (8) und in der Lymphe des Ductus thoracicus (11,353). Das sich nach der ersten Stunde einpendelnde Plateau mit einem Markierungsindex zwischen 2 und 3 %, das sich über den gesamten Beobachtungszeitraum hält, zeigt die Etablierung eines Gleichgewichts zwischen Einstrom und Abstrom von Lymphozyten in und von diesen Compartimenten an, die sich wegen ihres Verhaltens als leicht austauschbarer Lymphozytenspeicher (= LALS) zusammenfassen lassen.

Aus den Markierungsindices zur Zeit dieses Ausgleichs errechnet sich ein mittlerer Markierungsindex von 2,8 %. In absoluten Werten, bezogen auf den ZLS ergibt sich daraus, daß im Mittel $102,5 \times 10^8$ markierte Lymphozyten zirkulieren. Der gesamte LALS ist um den Quotienten aus der Menge markierter transfundierter Lymphozyten und der Menge zum stabilen Zeitpunkt im Mittel zirkulierender Blutlymphozyten $(43 \times 10^9 : 102,5 \times 10^8) = 4,2$ mal größer als der zirkulierende Lymphozytenspeicher. Hieraus errechnet sich eine Gesamtmenge von 153×10^{10} Lymphozyten für den LALS.

Dieses Verhältnis von LALS zu ZLS von 4,2 liegt in der Größenordnung, die von anderen Autoren für untherapierte CLL-Patienten zwischen 2,5 und 5,7 gefunden wurde (10).

Reziprok läßt sich das Verhältnis der absoluten Menge markierter zirkulierender Lymphozyten zur ursprünglich infundierten Menge markierter Lymphozyten in % ausdrücken: $102,5 \times 10^8 : 43 \times 10^9 = 24 \%$. Abbildung 2 gibt für jeden Zeitpunkt der Untersuchung diesen sogenannten "recovery" - Wert (10) an und bietet die Möglichkeit, das absolute Ausmaß des Abstroms der retransfundierten Lymphozyten zu kalkulieren. Hier zeigt sich das sofortige Verschwinden von über der Hälfte der retransfundierten Lymphozyten als Ausdruck der oben diskutierten Verdünnung in den Speicher initialer Verteilung an, so daß die ersten erfaßbaren Werte nach Retransfusion um 40 % liegen. Anschließend erfolgt noch in der ersten Stunde rasches Absinken von weiteren 20 %. Im weiteren Verlauf fällt nach zunächst weitgehend der Kurve des Markierungsindex parallelem Verhalten eine deutliche Absinktendenz auf. Diese findet ihre Erklärung in einer progredienten Abnahme der Gesamtlymphozytenzahl während der Untersuchungsdauer (zum Zeitpunkt 112h nur $50000/\text{mm}^3$ gegenüber $91400/\text{mm}^3$ zum Zeitpunkt 5 Minuten), die dem Abfall der Prozentwert-Kurve direkt proportional verläuft. Wie oben angegeben, fällt in diesen Zeitraum die Etablierung des Scribner -Shunts der Patientin. Ähnliche Beobachtungen bei anderen

Patienten (s.D.F.) veranlassen, im danach auftretenden allmählichen Absinken der zirkulierenden Lymphozytenmenge eine strömungsbedingte Verteilungsveränderung zu sehen. Von speziellem Interesse aber ist im Vergleich von Abbildung 1 und 2, daß der gleichzeitig konstante Verlauf des Markierungsindex beweist, daß diese Umverteilung markierte und unmarkierte Lymphozyten gleichermaßen betraf.

Die Markierungsintensität über den Zellkernen betrug im Mittel bei den Proben aus dem Inkubationsbeutel 41 Silberkörner. Drückt man den Verlauf der Markierungsintensität im Untersuchungszeitraum in Prozent dieses Ausgangswertes aus, so resultiert der Kurvenverlauf der Abbildung 3. Hierbei ergibt sich in den ersten 60 Minuten eine Erhöhung der mittleren Markierungsintensität über das Ausgangsniveau. Für dieses Phänomen ist der oben angegebene mögliche Nacheinbau von ^3H -Cytidin aus dem löslichen pool verantwortlich zu machen.

Von der ersten Stunde an stellt sich protrahierter Abfall der Markierungsintensität ein. Dies entspricht dem zu erwartenden RNS-Katabolismus (8).

Das im Rahmen dieser Verschiebungen der Markierungsintensität auftretende dynamische Wechseln von höheren und tieferen Intensitätswerten ließ eine Aufteilung in weitgefächerte Intensitätsgruppen nicht sinnvoll erscheinen. Dazudem die Ausgangswerte pro Ansatz schwankten, wurden nur

zwei relative Intensitätsgruppen dadurch getrennt, daß durch die Kornzahlverteilung der Initialmarkierung im Beutel eine Grenze derart gelegt wurde, daß zwei quantitativ gleich große Zellgruppen entstanden. Für die Ausgangsretransfusion BF-A lag die niedrige Intensitätsgruppe (I) über 10 und unter 39 Körnern, die höhere über 39 Körner. Für jeden Abnahmezeitpunkt ließ sich so der prozentuale Anteil der so definierten Lymphozyten an der Gesamtzahl markierter Lymphozyten errechnen. Diese Werte sind in Abbildung 4 aufgezeichnet. Sie zeigen, deutlicher als die Darstellung der mittleren Kornzahlverläufe, daß jenseits der 24. Stunde ein rascher Abfall des Anteils höher markierter mit (natürlich komplementärem) Anstieg in der niedrigeren Intensitätsgruppe erfolgt. Berücksichtigt man dabei, daß sich über diesen Zeitverlauf der Markierungsindex (vergleiche Abbildung 1) annähernd konstant hält, so wird deutlich, daß im Untersuchungszeitraum keine Verdünnung des Markierungsindex durch Zustrom unmarkierter Zellen erfolgt, sondern daß die Veränderungen in den Intensitätsklassen am ehesten auf langsamen Markierungsverlust und dadurch bedingten Übergang von höherer auf niedrige Intensitätsstufen bedingt sind.

2.) Patient B.F. Strahlerretransfusion vor Therapie
(= BF-AS)

Nach der ausführlichen Interpretation der Ausgangsretransfusion BF-A, kann die Deutung der weiteren Ansätze im Vergleich und Bezug darauf knapper erfolgen.

Zum Zeitpunkt der Strahlerretransfusion ist prinzipiell zu berücksichtigen, daß sich, wohl durch strömungsbedingte Umverteilung, ein niedrigeres absolutes Lymphozytenniveau um $28000/\text{mm}^3$ eingestellt hatte (vergleiche Werte in Tabelle).

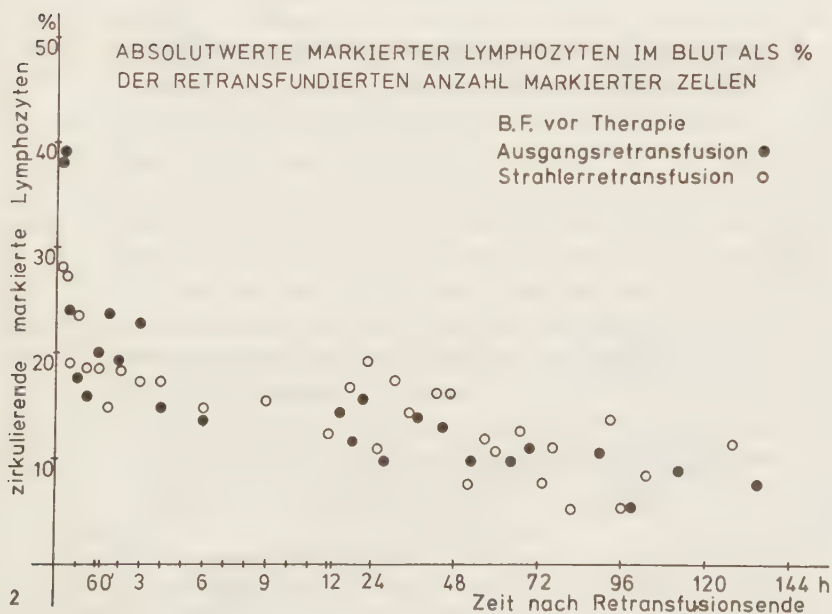
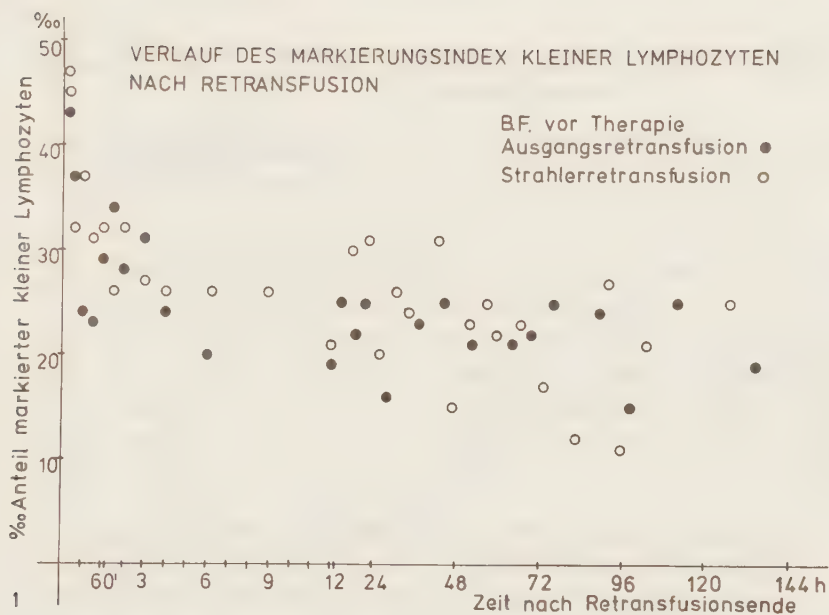
Auch nach der Applikation von 250 rd ergibt sich auf diesem Niveau ein sehr ähnliches Rückverteilungsmuster der retransfundierten Lymphozyten (Abbildung 1, helle Symbole). Der initiale Abfall erscheint in den ersten 60 Minuten etwas weniger steil, von der 2. Stunde ab aber zeigt sich fast paralleler Verlauf zur Ausgangsretransfusion. Daraus errechnet sich auch der gleiche mittlere Markierungsindex in den ersten vier Stunden von 2,8 %. Eine Kalkulation des Verhältnisses von leicht austauschendem Lymphozytenspeicher (LALS) zum zirkulierenden Lymphozytenspeicher (ZLS) bringt bemerkenswerterweise auf dem erniedrigten Lymphozytenniveau und nach Strahlenapplikation das gleiche Verhältnis von 4,2 wie zuvor. Der Prozentanteil autotransfundierter und markierter Lymphozyten im Blut (Abbildung 2) liegt in der Phase des Equilibriums

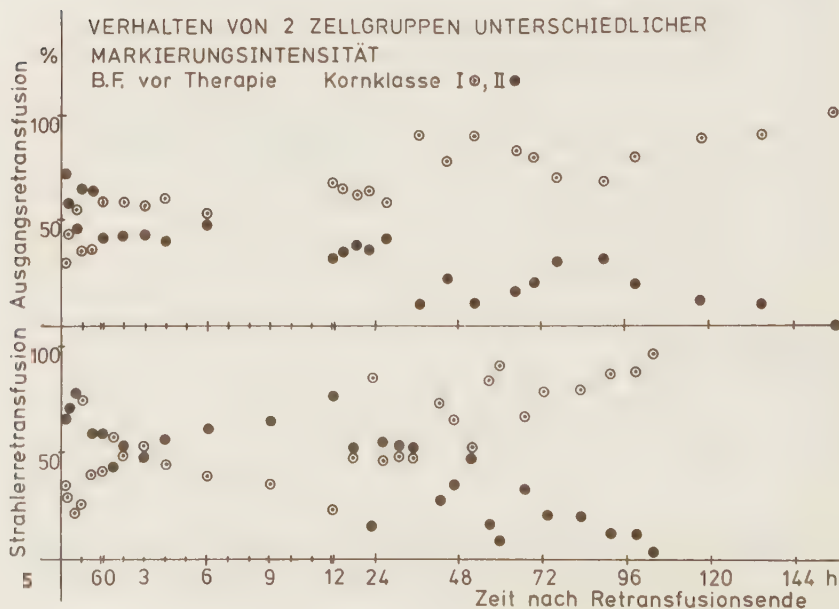
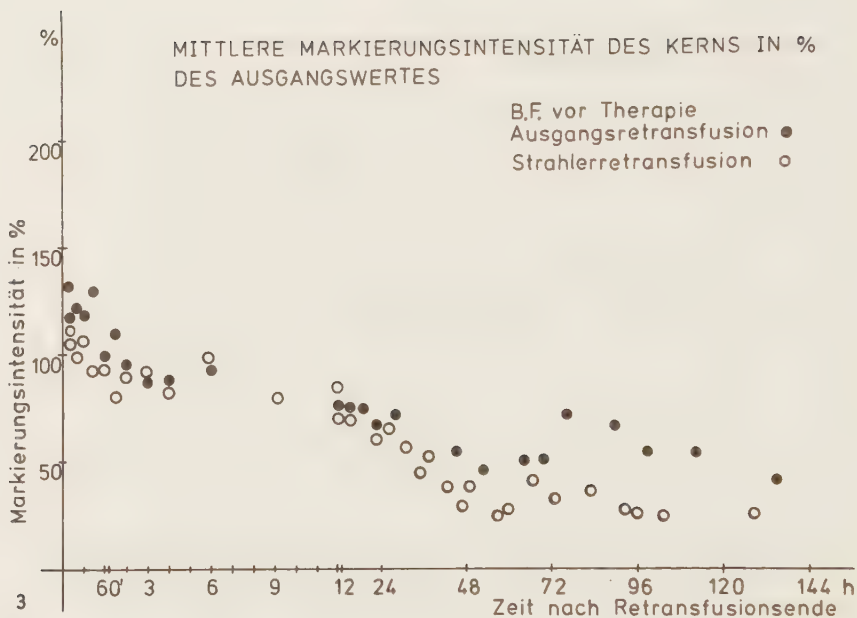
ebenfalls bei 2,4 % und zeigt auch im weiteren Verlauf Parallelität.

Diese überraschende Ähnlichkeit zum Verlauf der Ausgangsretransfusion ohne Strahleneinwirkung läßt sich bereits dahingehend interpretieren, daß kein deutlicher Hinweis für raschere Elimination bestrahlter gegenüber unbestrahlter Lymphozyten zu gewinnen war.

Die Markierungsintensität (Abbildung 3) liegt nur kurzfristig und unsignifikant über dem Verlauf der Ausgangsretransfusion.

In den Intensitätsklassen (Abbildung 4) zeigt sich im Gegensatz zum Verlauf bei B.F.-A., daß der Anteil hochmarkierter Zellen nach kurzem initialem Abfall bis zu 12 Stunden progredient ansteigt und noch bis zur 36. Stunde über dem der niedrig markierten liegt, um danach rasch abzusinken. Da diese Verschiebung zu Gunsten der hochmarkierten nur in der Strahlerretransfusion zu beobachten war, könnte man hier eine Selektion der Strahlenwirkung zu Gunsten hochmarkierter Zellen sehen. In späteren Phasen des Markierungsverlaufes wird dieses Phänomen durch den deutlich werdenden erwartungsgemäßen Katabolismus der RNS überlagert.





3.) Patientin B.F., Retransfusion nach Therapie
(= BF1B).

Am Ende der extracorporalen Blutbestrahlungsserie, die sich an BFAS anschloß, war eine weitgehende Depletion des zirkulierenden Lymphozytenspeichers erreicht; es zirkulierten lediglich noch 3770 Lymphozyten/mm³, gleichzeitig aber hatte sich die Milz deutlich vergrößert.

Die Verteilung der jetzt retransfundierten markierten Lymphozyten, die zum Vergleich mit den bisherigen Werten in Abbildung 5 und 6 in die gleiche Skala eingetragen wurden, zeigte bereits initial eine steile Verschwinderate auf 1,5 % fünf. Minuten nach Ende der Retransfusion, während bei einfacher Mischung 10 % zu erwarten wären. Das bedeutet, daß die initiale Verteilung in einem Speicher stattfindet, der 6,7mal so groß wie der zirkulierende ist. Sein marginaler Anteil (MLS) ist demnach 5,7mal größer als der zirkulierende. Verglichen mit den Werten vor Therapie ist die initiale Durchmischung mit dem marginalen Speicher jetzt etwa dreimal so stark. So findet der weitere Markierungsverlauf auf niedrigem Niveau statt. Bereits nach 60 Minuten ist der Durchschnittsmarkierungsindex für die weiteren Stunden und Tage von 0,25 % erreicht. Aus diesem niedrigen Index errechnet sich (s. Tabelle) ein leicht austauschbarer Lymphozytenspeicher (LALS) (s.

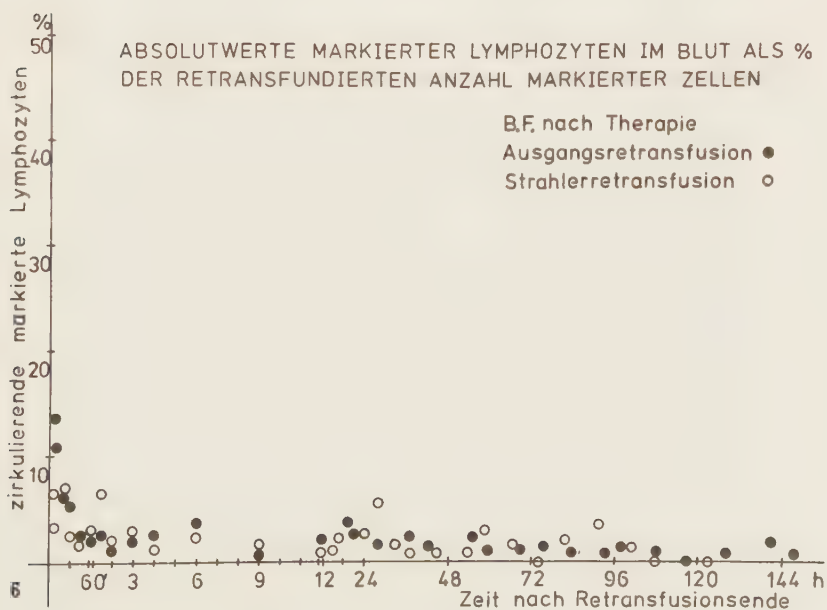
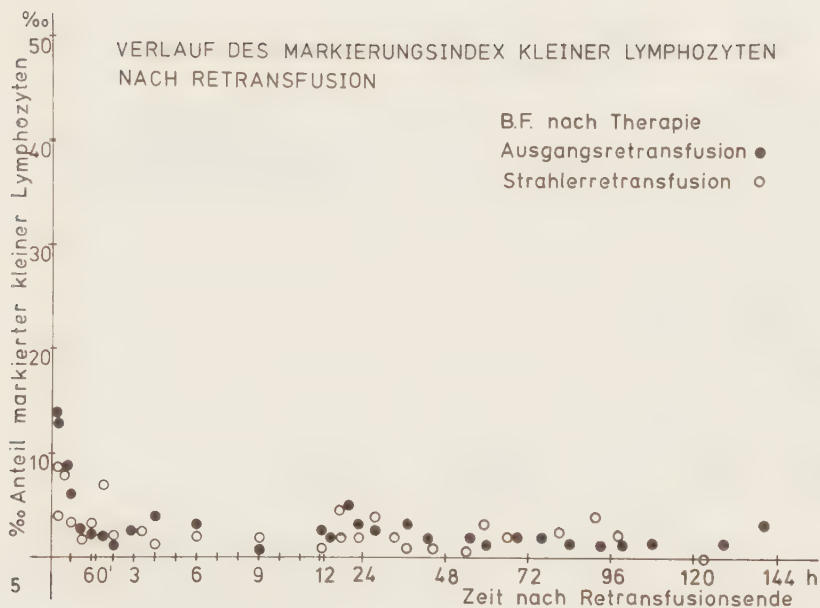
Tabelle) von 69×10^{10} Zellen. In Bezug zum zirkulierenden Speicher ergibt sich ein Quotient LALS: ZLS von 45,7, d.h., die nicht zirkulierenden, leicht austauschbaren Lymphozytenspeicher sind nach der Behandlung über vierzigmal größer als die zirkulierenden, während sie vor Therapie nur viermal größer waren. In absoluten Werten aber zeigt sich beim Vergleich der Werte für den LALS vor Therapie (153×10^{10}) mit dem nach Therapie (69×10^{10}), daß er nur um gut die Hälfte seiner absoluten Zellzahl verkleinert wurde.

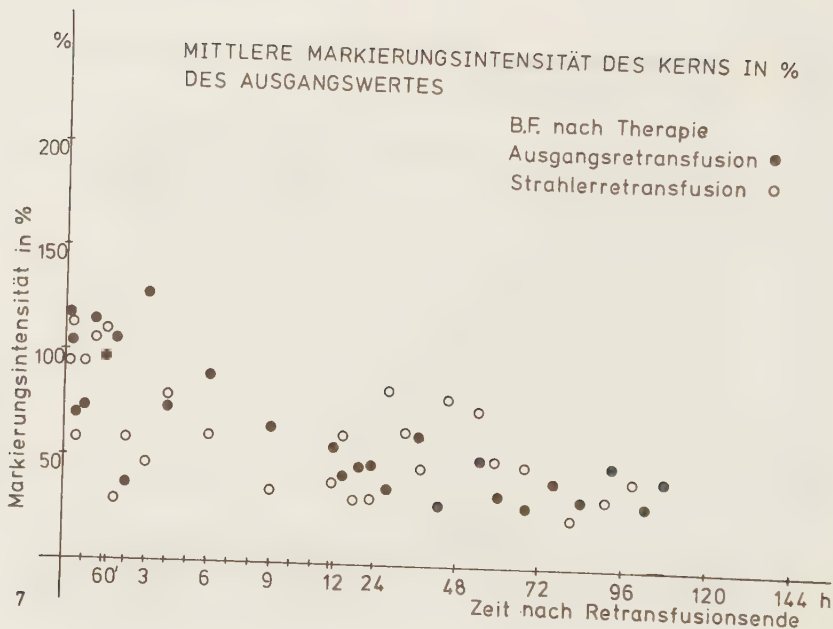
Im weiteren Verlauf zeigt sich auch hier kein signifikanter Abfall über den Beobachtungszeitraum, was für konstante Speicheraustauschmechanismen spricht.

Die Markierungsintensität (Abbildung 7) wies ebenfalls nach dem flüchtigen Phänomen eines initialen Anstieges einen langsam protrahierten Abfall wie in BF-A auf. Auf Grund der niedrigen Zellzahlen in dieser Serie nach Therapie war eine Aufteilung in verschiedene Intensitätsklassen nicht möglich.

4.) Patientin B.F., Strahlerretransfusion nach Therapie (= BF-BS)

Die Strahlerretransfusion erfolgte bei noch etwas niedrigeren Ausgangswerten wie BF-B. Jedoch zeigen sämtliche Kurvenverläufe (in Abbildung 5,6,7)





fast deckungsgleiches Verhalten wie BF-B. Insbesondere fand sich nicht wie in BF-AS Zeichen einer verzögerten Elimination hochmarkierter Zellen.

5.) Patient D.H., Ausgangsretransfusion (= DH-A)

Die rechnerischen Werte sind in der Tabelle aufgeführt, der graphische Verlauf in den Abbildungen 8 - 11 dargestellt. Nach Retransfusion errechnet sich gegenüber einem Erwartungswert von 9 % markierter Lymphozyten in Zirkulation bei Mischung in geschlossenem System aus dem realen Markierungsindex von 2,4 % nach fünf Minuten, daß der Speicher der initialen Verteilung etwa viermal so groß ist wie der zirkulierende Lymphozytenspeicher und daß der marginale Anteil MLS 2,7mal größer als der zirkulierende ist. Rasch stellt sich anschließend ein stabiles Equilibriumsniveau um 2 % ein. Während des Untersuchungszeitraumes zeigt sich nur eine leichte Absinkttendenz. In Absolutwerten bezogen auf die Menge transfundierter Zellen (Abbildung 9) ist diese Neigung noch geringer ausgeprägt. Da sich gleichzeitig die Lymphozytenwerte des Patienten stabil hielten, erklärt sich diese Absinkttendenz durch Absterben markierter Zellen und - oder Absinken unter die Hintergrundmarkierung (bis 10 Korn), wofür der Verlauf der Markierungsintensität spricht.

Für den LALS errechnet sich auf der Stufe des stabilen Equilibriums eine Größe von 240×10^{10}

Lymphozyten. Sein Verhältnis zum ZLS ist 4:1 und liegt damit bei einem Wert, der sich auch bei B.F. fand.

Die Markierungsintensität (Abbildung 10) weist keinen initialen Abfall auf. Nach stabilem Verlauf über die ersten 24 Stunden setzt deutlicher als bei B.F. ein Absinken ein, das wir, wie oben, bei relativer Konstanz des Markierungsindex vorwiegend auf Katabolismus der Markierung zurückführen müssen.

Die Aufteilung in eine hohe und eine niedrige Intensitätsgruppe (Abbildung 11) zeigt das bei Markierungskatabolismus zu erwartende allmähliche Abfallen des Anteils hochmarkierter bei spiegelbildlichem Anstieg der niedrigmarkierten Zellen. Dieses Verhalten entspricht fast dem bei BF-A beobachteten Muster.

6.) Patient D.H., Strahlerretransfusion (=DH-AS)

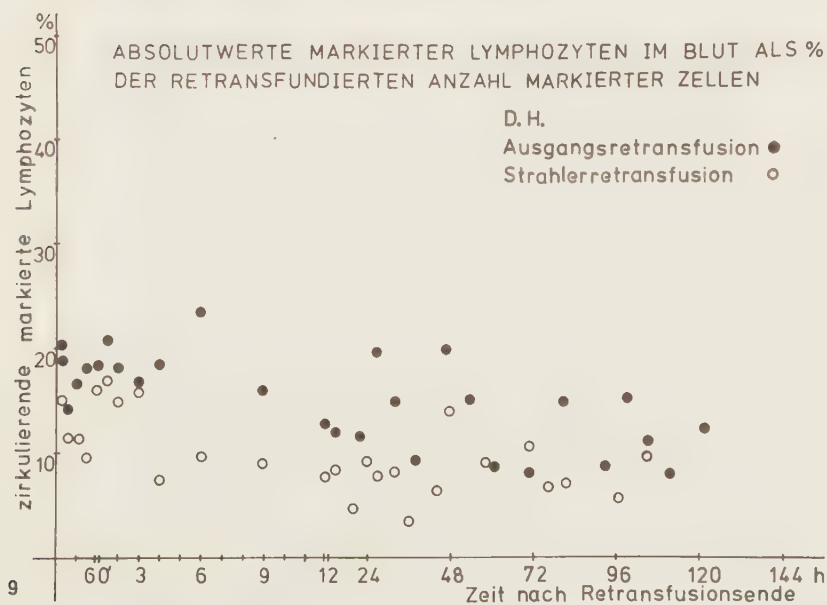
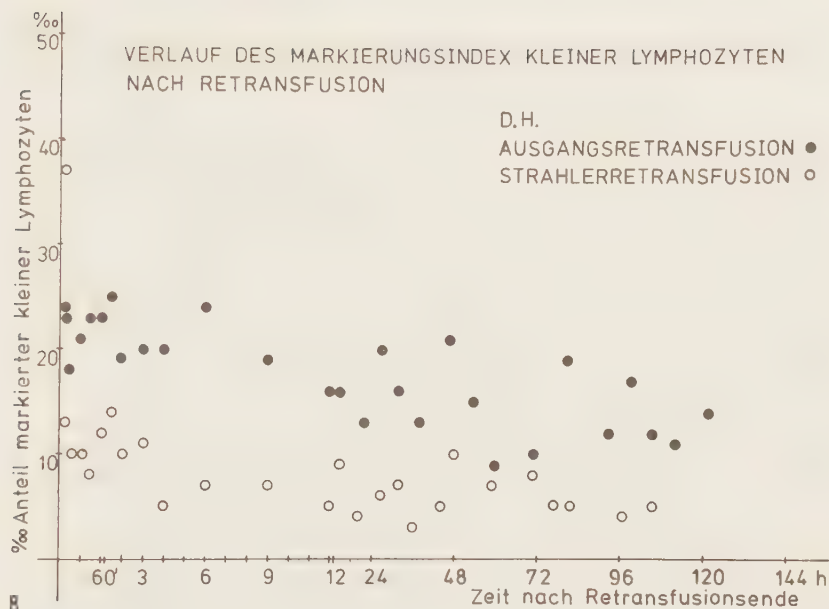
Diese Strahlerretransfusion fand zu einem Zeitpunkt statt, an dem (zusammen mit der funktionellen Ausbildung des Cimino-Shunts) die Gesamtleukozytenwerte von 100000 auf 67000 zurückgegangen waren. Schon in den ersten Minuten nach Retransfusion finden sich die markierten Lymphozyten auf Werte um 1 % verdünnt, was gegenüber der Ausgangsretransfusion eine Vergrößerung des marginalen Speichers anzeigt. Unter den Bedingungen der Strahlerretransfusion jedoch sind derartige Speicherberechnungen

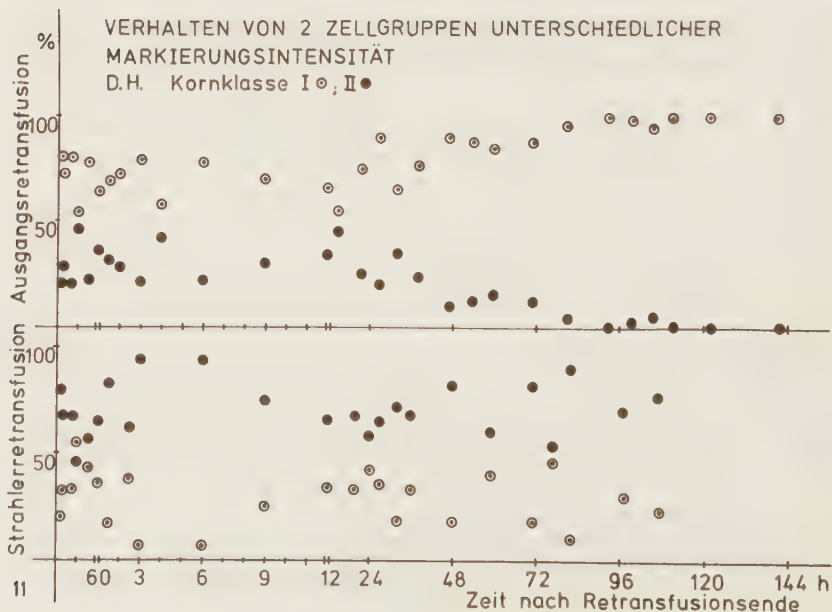
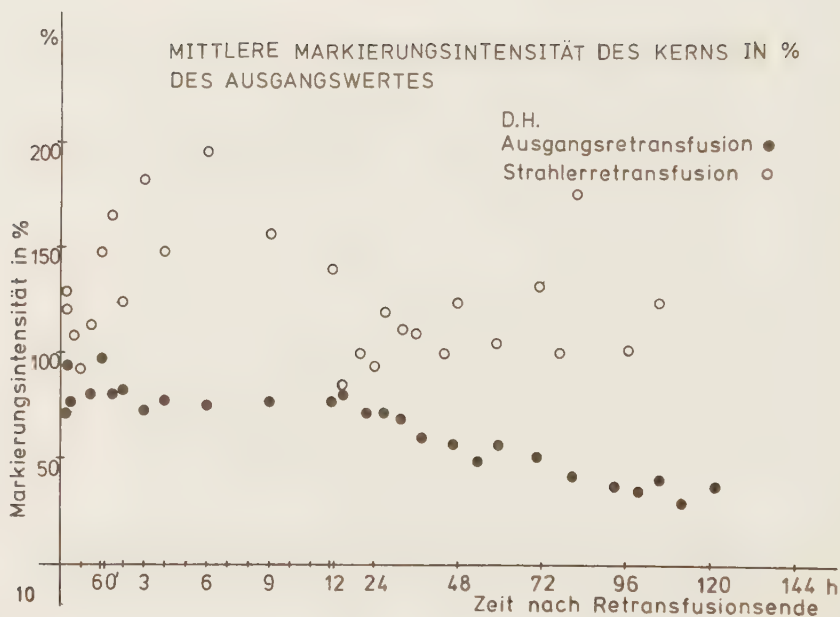
schwierig, da es sich auch um sofortige Elimination strahlengeschädigter Zellen handeln könnte, wie weiter unten zu diskutieren sein wird. Der weitere Verlauf ist in seinem Abfall von diesem niedrigen Markierungsniveau nicht steiler als die Ausgangsretransfusion. Auch in absoluten Werten hält sich der Anteil markierter Zellen über den Beobachtungszeitraum relativ konstant (Abbildung 9). Aus dem niedrigen Markierungsindex von 1 % zum Zeitpunkt des Equilibriums mit dem leicht austauschbaren Lymphozytenspeicher, das hier erst von der vierten Stunde ab erreicht scheint, errechnet sich ein LALS von 350×10^{10} . Das Verhältnis von LALS zu ZLS ist mit 9 : 1 fast um das Doppelte vergrößert.

Diese Veränderung nun ließe sich auch als Einwirkung der Strahlenschädigung erklären, da es für das steilere Abwandern von markierten Lymphozyten nach Durchlauf durch den Strahler keine direktere Erklärung gibt als die einer raschen Elimination dieser Zellen durch Strahlennoxen (siehe Diskussion).

Von besonderem Interesse ist der Verlauf der mittleren Markierungsintensität (Abbildung 10). Wie schon in früheren Verläufen beschrieben, ist in den ersten Minuten die Intensität leicht gegenüber den Ausgangswerten erhöht und fällt dann bis zum Ende der ersten Stunde steil ab. Ganz außergewöhnlich ist der danach einsetzende Neuanstieg bis auf das Doppelte der mittleren

Ausgangskornzahlen. Erst nach einem Tag sind Werte leicht über Ausgangsniveau erreicht, die in den folgenden vier Tagen im Gegensatz zur Ausgangsretransfusion nicht abfallen. Bei Aufteilung in zwei gleichgroße Intensitätsgruppen (Abbildung 11), wobei die eine über, die andere unter 40 Körner aufwies, ergibt sich das paradoxe Verhalten eines Überwiegens der hochmarkierten mit Gipfeln um die 6. und 72. Stunde bei reziprokem Abfall der niedrigeren Intensitätsgruppe. Dazu ist besonders zu beachten, daß diese Zellen mit höherer Intensität zeitweise annähernd 100 % der Lymphozyten ausmachen und daß sich gleichzeitig die Gesamtzahl zirkulierender markierter Lymphozyten im Verlauf nicht wesentlich verändert (Abbildung 8 und 9).





DISKUSSION

Die chronische lymphatische Leukämie läßt sich nach DAMESHEK (17) als eine "Akkumulationskrankheit immunologisch inkompetenter Lymphozyten" charakterisieren. Nach neueren Untersuchungen (4836) beruht die Vermehrung der Lymphozyten auf einer etwa fünffachen Verlängerung der durchschnittlichen Lymphozytenüberlebenszeit bei gleichzeitig zehn- bis fünfzehnfacher Steigerung ihrer Neuproduktionsrate. Die Funktionsstörung der CLL-Lymphozyten liegt in gestörter Immunglobulinsekretion der zu über 90 % meist monoklonales Immunglobulin an der Oberfläche tragenden Lymphozyten und in Verminderung der Anzahl zur direkten zellulären Transformation auf Antigenreizfähigen Zellen (1314).

Von besonderem Interesse im Zusammenhang der vorliegenden Studie ist

- 1) die Zirkulationskinetik der Lymphozyten bei chronischer Lymphadenose im Vergleich zu Normalbefunden. Zum Studium des Zirkulationsverhaltens hat die von uns gewählte Retransfusion ^3H -Cytidin-markierter Lymphozyten, wie eingangs gezeigt, weiteste Verbreitung gefunden.

Die initiale intravasculäre Lymphozytenverteilung direkt nach Retransfusion erreicht bei Normalpatienten und aleukämischem Lymphom-Patienten Werte um 2 %; im Vergleich zu den Erwartungswerten in einem geschlossenen System

konnte man daraus schließen, daß der Speicher der initialen Verteilung 2 - 5mal größer ist als der zirkulierende Lymphozytenspeicher (ZLS) (10²⁸). Die gleiche Größenordnung dieses Verhältnisses zwischen 2 und 6 wurde in einer Reihe von Untersuchungen an CLL-Patienten demonstriert. Der Speicher, mit dem die Lymphozyten in initialer Verteilung stehen, wird darin analog zu Befunden an Granulozyten (2,1) als intravasal randständig, als "marginal" angenommen (d.f. marginaler Lymphozytenspeicher MLS) (2,1). Nach den Untersuchungen von SCOTT und DAVIDSON (42) hat dieser Speicher seine größte Ausdehnung in der Milz. ZLS und MLS sind demnach Unterabteilung des gesamten intravasculären Lymphozytenspeichers. Da in unseren vergleichbaren Ansätzen das Verhältnis ZLS : MLS 1 : 1 (BF-A) bzw. 1 : 2,7 (DH-A) betrug, liegen diese Werte im Bereich der dargestellten Befunde anderer Untersucher.

Die extravasculäre Lymphozytenverteilung in den ersten Stunden nach Retransfusion führt bei Normalpersonen zu einer Wiederfinderrate (= "Recovery") der autotransfundierten markierten Blutlymphozyten von durchschnittlich 5 %, während sie bei CLL um 30 % angegeben wird (10). Unsere Werte (vergleiche Tabelle jeweils letzte Spalte; Abbildung 2 und 9) von 24 % (BFA) und 23 % (BAA) entsprechen diesen Befunden voll. Während also 95 % der Lymphozyten von Normalpersonen innerhalb weniger Stunden aus dem Blutgefäß-

system auswandern, sind dazu bei unseren CLL-Patienten nur 75 % in der Lage.

Der extravasculäre Speicher, mit dem die Lymphozyten in protrahiertem Austausch stehen (= leichtaustauschbarer Lymphozytenspeicher LALS) ist bei Normalpersonen also 6-19mal und bei aleukämischen Lymphosarkompatienten 15-51mal größer als sein zirkulierender Anteil ZLS allein (40). Mit der Cr^{51} -Technik errechnete HERSEY (25) ein durchschnittliches Verhältnis von ZLS : LALS von 1 : 50 für Normalpersonen. Demgegenüber fanden sich für CLL-Patienten Werte für dieses Verhältnis von 2,5 - 6,8 (38). In der gleichen Größenordnung liegen unsere Werte von 4,2 (BFA) und 4 (DHA) und weisen somit auf eine stark gestörte Austauschfähigkeit der CLL-Lymphozyten mit den extravasculären Speichern hin. Als ihr Sitz sind in erster Linie die Milz, die Lymphknoten, das Knochenmark und die Leber anzusehen (10, 25, 43, 44). Diese funktionelle Emigrationsstörung der CLL-Lymphozyten trägt entscheidend zur pathognomonischen intravasalen Anhäufung bei (26).

Nach den dargestellten pathomechanischen Faktoren einer Überlebenszeitverlängerung der CLL-Lymphozyten und einer speziellen intravasculären Anhäufung bot sich eine Behandlung der CLL durch Elimination dieser Zellen mittels der extracorporalen Blutbestrahlung (ECIB) an (495). Allerdings zeigte diese Methode in einem Teil der Fälle nur

kurzfristige Effekte auf die zirkulierende Lymphozytenanzahl und zum Teil keinerlei Effekte auf Organomegalien bzw. lymphatische Organinfiltrationen (5,46;29,2447). Daher sind die hier vorgelegten Ergebnisse über den

- 2) Effekt der extracorporalen Blutbestrahlung auf die verschiedenen Lymphozytenspeicher von spezieller Bedeutung.

Hierzu kann der Vergleich der Retransfusionen BFA vor Therapie mit BFB nach Therapie dienen. Die dazwischen liegende Therapieserie hatte eine Reduktion des zirkulierenden Lymphozytenanteils von $90000/\text{mm}^3$ auf $2800/\text{mm}^3$ bewirkt (s. Tabelle). Gleichzeitig aber fiel eine deutliche Größenzunahme der Milz auf. Der Retransfusionsverlauf zeigt nun, daß nach Therapie die Verteilung der Lymphozyten nicht mehr in einem nur doppelt so großen sondern in einem fast siebenfach größeren Speicher als dem der zirkulierenden Lymphozyten stattfindet; das Verhältnis MLS : ZLS ist von 1 : 1 auf 5,7 : 1 angestiegen. Dieser Befund zeigt im Vergleich zu den oben angegebenen Normalbereichswerten eine weitgehende Normalisierung der Abwanderungsfähigkeit zunächst in den intravasalen, marginalen Lymphozytenspeicher an.

Die weitere Abwanderung aber ist ebenfalls so stark, daß sich an Stelle einer recovery von 24 % vor Therapie eine von 2,2 % ergab. Das Verhältnis von LALS : ZLS war von 4,2 : 1 auf 45,7 : 1 angestiegen. Während also anfangs bei

hochleukämischen Blutbildwerten das Verhältnis in für CLL typischer Weise zu Gunsten des zirkulierenden Lymphozytenanteils verschoben war, erbrachte die Therapie über eine Erniedrigung des zirkulierenden Anteils eine extreme Verschiebung zu Gunsten des nicht zirkulierenden Anteils im LALS. Diese Verschiebung geht weit über den Wert von 1 : 19 für Normalpatienten mit der gleichen Methode (10) hinaus. Eine ähnliche Verschiebung der Speicherverhältnisse wurde nach ECIB bisher an zwei Patienten beschrieben (38); hier erfolgte sie von 1: 6,5 auf 1: 26,1 und von 1 : 6,8 auf 1 : 13,4.

Vergleicht man nun in unserem Ansatz die absoluten Werte für den LALS, so zeigt sich, daß er von 15,3 auf $6,9 \times 10^{11}$, also auf nur 45 % des Ausgangswertes verkleinert wurde, während bei den zuletzt zitierten Patienten eine Depletion auf 24 % und 7 % gelang (38). Die absolute Zellzahl des LALS bei unserer Patientin (vergleiche Tabelle) beträgt auch nach Therapie noch das Fünf- bis Zehnfache der verfügbaren Normaldaten (10).

Somit gelang hier offenbar durch die extracorporale Blutbestrahlung zwar eine maximale Depletion des zirkulierenden Lymphozytenspeichers, aber eine nur ungenügende Mobilisierung des LALS als Voraussetzung einer Elimination dieser Zellen in der Bestrahlung der Strombahn. Das klinische Bild, bei dem unter Bestrahlung der Sple-

nogigantismus zunahm, weist deutlich auf den vorwiegenden Sitz dieses nicht mobilisierbaren Speichers hin. Als Erklärung für das einerseits deutlich verbesserte bzw. normalisierte Zirkulationsverhalten der Lymphozyten nach Therapie und die andererseits ungenügende Mobilisierbarkeit der Zellen aus dem Milz-LALS bieten sich ... die bei Hypersplenismus bekannten Mechanismen an (21):

Nach Austritt in die extravasalen Sinus-Pulparegionen ist der Rückstrom der Zellen durch das Reusensystem deutlich erschwert. So gehen Lymphozyten von primär leichter Austauschbarkeit in einen schwer austauschbaren Speicher über. Das Phänomen einer Größenzunahme der Milz unter extracorporaler Bestrahlung ist bekannt und läßt sich als Hypertrophie des Sinus-Pulpagewebes durch Sequesteration der strahlengeschädigten Lymphozyten erklären (5,46). Diese Größenzunahme der Milz führt dann zur weiteren Vergrößerung des extravasalen Lymphozytenanteils und speziell durch den Hypersplenienmechanismus zur Zunahme des Anteils schwer austauschbarer Zellen. Der klinisch von zunehmender Hyperspleniesymptomatik ohne Lymphozytenanstieg gekennzeichnete Verlauf der Patientin BF. nach extracorporaler Blutbestrahlung belegt dieses Konzept und zeigt, daß bei Patienten mit primär großer Milz die extracorporale Blutbestrahlung wegen dieser Speicheraustauschstörungen in der Milz zu keiner ausreichenden Depletion führen kann.

Dieses Therapieverfahren konnte auf Grund derartigen Befunde als inadäquat für die Pathomechanik splenomegaler CLL-Fälle angesehen werden (47).

Die häufig angewandten radiologisch-depletorischen Therapieverfahren bei CLL implizieren im hier gewählten Untersuchungsansatz die Frage der

3) Strahlensensibilität und Strahlenselektion von CLL-Lymphozyten.

Von deutlicher Aussagekraft war hier die Strahlerretransfusion DHAS. Die beobachtete steilere marginale Verteilung der retransfundierte, mit 250 rd bestrahlten Lymphozyten weist auf ein sofortiges Abwandern einer Zellfraktion hin. Die sich danach ergebende Verdoppelung des Verhältnisses von LALS : ZLS erlaubt letztlich unter den artefiziellen Bedingungen der Retransfusion bestrahlter Lymphozyten keine realen Aussagen über die Speichergrößen, sondern gibt ein Maß für die Strahlenschädigung, die zur Elimination der Lymphozyten führte. Beim Vergleich der "recovery" ohne Strahleneinwirkung (in DHA 23 %, siehe Tabelle) mit dem Wert nach Passage des Strahlers (DHAS 10 %) ergibt sich so eine Elimination von 50 % der transfundierten Lymphozyten als Strahlenfolge. Da diese Zellen im weiteren Verlauf nicht wieder erscheinen, was sich in einer Anhebung des Markierungsindex anzeigen müßte, darf von einer "killing rate" (9) von 50 % gesprochen werden.

Anderen Orts wurde nach Applikation von 400 rd eine killing rate von 34 %, 55 % und 71 % beobachtet (9). Eine individuelle Variabilität der Strahlenempfindlichkeit von CLL-Lymphozyten um das Zehnfache ist dem Radiotherapeuten bekannt (32). Daß die gewählte Dosis von 250 (bzw. 400) rd nicht zu einem 100 %igen Absterben der bestrahlten Lymphozyten führte, läßt sich am ehesten durch unterschiedliche Fähigkeit der Zellen zur Reparation der chromosomalen Schädigung erklären (30,31).

Eine Selektion der Strahlenwirkung zu Gunsten einer bestimmten Lymphozytenfraktion zeigte sich im Verlauf der Markierungsintensität an. Das hier, nach Strahlenapplikation und sonst nie beobachtete zeitweilige 100 %ige Vorliegen von Zellen, die doppelt so hoch wie der ursprüngliche Durchschnittswert mit ^3H -Cytidin markiert waren, bedeutet zunächst eine Selektion von Zellen mit intensiver RNS-Synthese. Da die Markierungsintensität aber bis zum Ende der ersten Stunde abfällt und erst danach steil ansteigt, ist es möglich, daß die der Elimination entkommenen Zellen nicht primär diese hohe Markierungsintensität aufwiesen, sondern sie erst durch Utilisation markierter RNS-Bruchstücke aus zugrundegehenden Zellen oder freien ^3H -Cytidins gewannen. Diese Alternative läßt sich nach den vorliegenden Befunden nicht entscheiden; es steht jedoch fest, daß die intensivere RNS-Synthesefähigkeit hier primär oder sekundär, durch verbesserte Reparations-

fähigkeit der Strahlennoxe, das "killing" dieser Zellfraktion verhinderte. In der Literatur gibt es eine Reihe von Hinweisen auf die Bedeutung der RNS-Synthese für die Strahlenprotektion von Lymphozyten. So korreliert das Überleben normaler Lymphozyten nach einer Strahlendosis von 200 - 400 rd direkt ihrer RNS-Syntheserate (15), während umgekehrt eine Hemmung der RNS-Synthese durch Actinomycin die Strahlenempfindlichkeit deutlich steigert (33). STRYCKMANS et al (45) konnten an vier CLL-Patienten unter ECIB zeigen, daß der Abfall ihrer Zellzahlen umgekehrt proportional dem RNS-Umsatz war. Dies entspricht unserem Befund einer Strahlenselektion zu Gunsten von Zellen mit intensivem ^3H -Cytidineinbau.

Von diesen Befunden aus ist der ganz andersartige Verlauf bei Patientin B.F. zu diskutieren. In den Strahlerretransfusionen vor der ECIB-Therapie (BFAS, BFBS) läßt sich kein Effekt auf die bestrahlten Lymphozyten im Sinne einer "killing rate" feststellen. Jedoch trat auch hier von der dritten Stunde an ein deutliches Überwiegen relativ hochmarkierter Zellen auf. Da sich gleichzeitig die mittlere Markierungsintensität konstant hielt und die Gesamtzahlen markierter Lymphozyten nicht absanken, ließe sich dieses Phänomen durch Neueinbau von ^3H -Cytidin aus dem löslichen pool erklären. Dieser RNS-Synthese-

Anstieg wäre im Rahmen der Reparation des durchgemachten Strahlenschadens verständlich, da derartige Reparationsmechanismen auch Schäden durch letale Dosen ausgleichen können (18). Daß trotz dieser Resistenz gegenüber 250 rd in der Blutbestrahlungsserie eine deutliche Erniedrigung der Lymphozytenwerte (von durchschnittlich 30000 auf 4000/mm³) erzielbar war und somit keine therapeutische Strahlenresistenz auffiel, kann zum einen an der wiederholten Applikation der in der Strahler-retransfusion nur einmal verabfolgten Dosis während der ECIB-Serie auf die zirkulierenden Lymphozyten liegen. Der so allein während eines Tages maximal von einer Zelle akkumulierbaren Dosis von 800 rd hielten offenbar die angedeuteten Reparationsmechanismen nicht im gleichen Maße wie den experimentell verwandten 250 rd stand. Zum anderen bleibt offen, ob die Erniedrigung der zirkulierenden Lymphozytenanzahl unter extracorporaler Blutbestrahlung einem effektiven "killing" dieser Zellen entspricht. Die gezeigte Milzvergrößerung und ungenügende Depletion des LALS könnte auch Ausdruck einer bloßen Verschiebung durch strahlenschaden zirkulationsunfähiger Lymphozyten in den Leicht- und von dort aus u.U. in den Schwer-austauschbaren Lymphozytenspeicher sein.

ZUSAMMENFASSUNG

Die einfache Retransfusion ^3H -Cytidin-markierter Lymphozyten und die Retransfusion nach Applikation einer Strahlendosis von 250 rd auf die Zellen bei zwei Patienten mit chronischer Lymphadenose (CLL) in insgesamt sechs Ansätzen erlaubte Aussagen über das Zirkulationsverhalten der CLL-Lymphozyten, die Beeinflußbarkeit seiner Störungen durch Behandlung mit extracorporaler Blutbestrahlung und über unterschiedliche Strahlensensibilität.

- 1.) Beide Fälle zeigten eine ausgeprägte Störung des Austausches zirkulierender Lymphozyten mit extravasalen Speichern.
- 2.) Nach Depletion der zirkulierenden Lymphozyten mittels extracorporaler Blutbestrahlung war eine normale Abwanderung der zirkulierenden Lymphozyten in extravasale Speicher, jedoch im beobachteten splenomegalen Falle keine genügende Mobilisation aus diesen Speichern möglich.
- 3.) In einem Falle boten die Lymphozyten nach Verabfolgung von 250 rd keine Reaktion, im anderen Falle wurde ein Absterben von 50 % der Zellen beobachtet. Diese Divergenz ist als unterschiedliche Strahlensensibilität zu deuten.

Im strahlensensiblen Falle ließ sich aufzeigen, daß die Strahlenresistenz der nicht reagierenden Zellfraktion der Intensität ihrer RNS-

Synthese korreliert.

Diese Ergebnisse zeigen exemplarisch verschiedene Möglichkeiten der Pathomechanik bei chronischer lymphatischer Leukämie auf und geben Hinweise auf eine adäquate Therapiewahl auf Grund von Parametern der Zirkulationskinetik und des Nukleinsäurestoffwechsels der pathognomonischen Zellen.

Meinen besonderen Dank möchte ich an dieser
Stelle aussprechen:

Herrn Prof. Dr. H. Begemann
für die freundliche Überlassung des Themas,

Herrn Dr. H. Theml

und

Herrn Dr. P. Schick

für ihren ständigen Beistand mit Rat und Tat,

sowie all denen, deren Mitarbeit mich beim
technischen Teil der Arbeit unterstützte.

LITERATUR

1. Athens, J.W., O.P. Haab, S.O. Raab, A.M. Mauer, H. Ashenbrucker, G.E. Cartwright and M.M. Wintrobe, Leukokinetic Studies. IV. The total blood, circulating and marginal granulocyte pools and the granulocyte turnover rate in normal subjects. J.clin.Invest. 40, 989 (1961)
2. Athens, J.W., S.O. Raab, O.P. Haab, A.M. Mauer, H. Ashenbrucker, G.E. Cartwright and M.M. Wintrobe, Leukokinetic Studies. III. The distribution of granulocytes in the blood of normal subjects. J.clin.Invest. 40, 159 (1961)
3. Binet, J.L., B. Villeneuve, R. Bécard, Y. Logeais, J.P. Laudat et Mathey, J. Temps de passage dans le canal thoracique des lymphocytes du sang de la leucémie lymphoïde chronique. Nouv.Rev.Franc. Hémat., 7, 621 (1967)
4. Begemann, H., Rastetter, J., Kaboth, W. Klinische Hämatologie. Stuttgart, G.Thieme 1970.
5. Begemann, H., Thöml, H., Fink, U. Die Therapie der chronischen lymphatischen Leukämie. In: Leukämien und maligne Lymphome. Ed. Stacher, A. Urban und Schwarzenberg, München-Berlin-Wien 1973, 293.
6. Bremer, K. und Fließner, T.M. Neuere Gesichtspunkte zur Kinetik von Lymphozytenpopulationen. In: Leukämien und maligne Lymphome. Ed. Stacher, A. Urban und Schwarzenberg München-Berlin-Wien (1973), pp.202-211.
7. Bremer, K. and Fließner T.M. Studies on the in vitro uptake of H³ -cytidine in human blood lymphocytes. Europ.J.Clin.Biol.Res., 16, 19 (1971).
8. Bremer, K. and Fließner, T.M. RNA-metabolism of circulating lymphocytes studied in man after autotransfusion and in vitro H³ -cytidine labeling. Acta Haemat. (Basel) 45, 181 (1971).
9. Bremer, K., Hollinger, R., Bock, O., Fröhlich, D., Fließner, T.M., Heimpel, H. Changes in the lymphocyte pools in the course of ECIB in patients with chronic lymphocytic leukemia. Abstr.Europ.Soc. Clin.Invest. Rotterdam 1973
10. Bremer, K., Fließner, T.M., Schick, P. Kinetic differences of autotransfused H³ -cytidine labeled blood lymphocytes in leukemic and non-leukemic lymphoma patients. Europ.J.Cancer 9, 113 (1973).
11. Bremer, K., Schreml, W. and Harris, E.B. Comparative studies on the in vitro uptake of H³-cytidine and H³ - uridine by normal and leukemic lymphocytes. Scand.J.Haemat. 11, 122-130 (1973).

12. Bremer, K., Schick, P., Wack, O., Theml, H.
Brass, B., Heimpe, H. Rezirkulation von Lym-
phozyten bei Patienten mit malignen lymphat-
ischen Systemerkrankungen. Blut, 24, 215 (1972).
13. Catovsky, D., Miliani, E., Okos, A., Galton, I.A.G.
Clinical significance of T-cells in chronic
lymphocytic leukemia. Lancet II (1974), 751.
14. Cohnen, G. Klinisch-diagnostische Bedeutung der
Oberflächenmarker menschlicher T- und B-Lym-
phocyten. Dtsch. med. Wschr. 99, 2302 (1974).
15. Cottier, H., Jost, L. Autoradiographische und
elektronenoptische Untersuchungen über die
Wirkung ionisierender Strahlen auf das immu-
nobiologisch aktive Gewebe. Proc. 8th Congr. Europ.
Soc. Hematol. 1, 195 (1961).
16. Cuttner, J., Cronkite, E.P., Kesse, M., Fliedner,
T.M. Behaviour of autotransfused in vitro H3-
cytidine (H3-CDR)-labeled lymphocytes in chronic
lymphocytic leukemia (CLL). J. Clin. Invest. 43,
1236 (1964)
17. Dameshek, W. Chronic lymphocytic leukemia - an
accumulative disease of immunologically incom-
petent lymphocytes. Blood 29, 566-584 (1967).
18. Elkind, M.M., Sutton, H. Repair of X-ray damage
in surviving chinese hamster cells. Rad. Res.
13, 556 (1960).
19. Feinendegen, L.E. Tritium-labeled molecules in
biology and medicine. (Academic Press: New
York - London 1967).
20. Feinendegen, L.E., Bond, V.P., Painter, R.B. Studies
on the relationship of RNA-synthesis, DNA-
synthesis and precursor pools in human tissue
culture cells, studied with tritiated thymi-
dine. Exp. Cell Res. 22, 381 (1958).
21. Fischer, J. Hypersplenismus. Internist 12,
176 (1971)
22. Fliedner, T.M., Experimental studies on PHA-
stimulated lymphocytes and autotransfusion of
H3-cytidine labelled lymphocytes in chronic
lymphocytic leukemia. In: Yoffey, J.M. (Ed.):
The Lymphocyte in Immunology and Haemopoiesis,
pp 198-206 (Arnold: London 1967).
23. Fliedner, T.M., Bremer, K., Pretorius, F., Drücke,
B., Cronkite, E.P. and Fache, I. Utilisation de la
thymidine et de la cytidine tritiées pour l'ét-
ude du turnover et du métabolisme des lympho-
cytes chez l'homme. Nouv. Rev. franc. Hémat. 8,
613 (1968).

21. Frühling, O., Bock, O. Ergebnisse bei Tangzeit-
behandlung chronischer Lymphadenosen mit
extrakorporaler Blutbestrahlung. Verh.Dtsch.
Ges.Inn.Med. 79, 524 (1973).
25. Hersey, P. The separation and 51chromium label-
ling of human lymphocytes with in vivo studies
of survival and migration. Blood, 38, 360 (1971).
26. Lucas, Z.J. Pyrimidine nucleotide synthesis:
Regulatory control during transformation of
lymphocytes in vitro. Science 156, 1237-1239
(1967).
27. Manaster, J., Frühling, J., Stryckmans, P. Kinetics
of lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia.
I. Equilibrium between blood and a "readily
accessible pool". Blood 41 (1973), 425.
28. Merrit, J.A., Coco, f.A., Desforges, J.F. Blood
and organ studies of circulating lymphocytes
in humans with normal leukocyte counts.
Amer.J.med.Sci. 258, 237 (1969).
29. Meuret, G., Fliedner, T.M., Schütz, W., Öhl, N.,
Afkham, J., Obrecht, P., Musshoff, K. Erfahrungen
mit der extrakorporalen Blutbestrahlung bei
der Behandlung der chronischen lymphatischen
Leukämie. Klin.Wschr. 49, 899 (1971).
30. Norman, A. DNA-repair in lymphocytes and some
other human cells. In: DNA-repair-Mechanisms.
Hrsg: H.Altmann, Schattauer, Stuttgart -
New York 1972, p 9-16.
31. Okazaki, R. Studies on DNA-replication mechan-
isms and their possible implications in
radiation damage and repair of DNA. In: DNA-
Repair-Mechanisms. Hrsg: H.Altmann, Schattauer,
Stuttgart - New York 1972, p129-150.
32. Osgood, E.E. Radiobiologic observations on
human leukemic cells in vivo and in vitro.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 95, 828 (1961).
33. Manninger, K., Griem, M.L. Modifikation of rad-
iation response of tumors by actinomycin D.
Ann.J.roentgenol.Radiat.Therap.Nucl.Med. 96,
147, (1966).
34. Revillard, J.P., Brocher, J., Durix, A., Bernhardt
J.P., Byron, P.A., Archimbaud, J.P., Fries, D. et
Traeger, J. Drainage du canal thoracique avant
transplantation chez des malades atteints
d'insuffisance rénale chronique. Nouv.Rev.
fran.Hémat. 8, 585 (1968).

35. Rubin, A.D., Johnson, L.I., Brown, S.M. Lymphocyte proliferation and lymphoproliferative disorders. *Progr. Exp. Tumor Res.* 13, 135-180 (1970).
36. Schick, P., Lymphozytenkinetik bei lymphatischen Systemerkrankungen (chronische lymphatische Leukämie, Lymphogranulomatose). *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* 79, 154-158 (1973).
37. Schick, P. unpublished data
38. Schick, P., Thöml, H., Kaboth, W., Czerniack, H., Begemann, H., Flöckner, T.M., Mailli, B., Zellner J., Bremer, K., Bock, O. Einflüsse von extrakorporaler Blutbestrahlung und Milzbestrahlung auf in vitro markierte und autotransfundierte Blutlymphozyten von CLL-Patienten. In: Leukämien und maligne Lymphome. Hg. Stacher, A. Urban und Schwarzenberg München-Berlin-Wien (1972), 302.
39. Schick, P., Trepel, F., Lehmann-Brockhaus, E., Nietmann, H. Autotransfusion of H³-cytidine-labelled blood lymphocytes in patients with Hodgkin's disease and Non-Hodgkin's patients. I. Limitations of the method. *Acta haemat. (Basel)* 1975 in press.
40. Schiffer, L.M. Kinetics of chronic lymphocytic leukemia. *Ser. Haemat.* 1, 3 (1968).
41. Schreml, W., Bremer, K., Schick, P. Studies on the intracellular nucleic acid metabolism of circulating leukemic cells. Autotransfusion studies in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Internat. Soc. Hemat., Milano* 1971, abstract volume, p. 147.
42. Scott, J.L., Davidson, J.G., Normal lymphocyte kinetics, Influence of splenectomy and epinephrine. *Blood*, 36, 827 (1970) (Abstract).
43. Spivak, J.L. and Perry, S., Lymphocyte kinetics in chronic lymphocytic leukemia. *Brit. J. Haemat.* 18, 511 (1970).
44. Stryckmans, P.A., Chanana, A.D., Cronkite, E.P., Greenberg, M.L. and Schiffer, L.M., Studies on lymphocytes IX. The survival of autotransfused labeled lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia. *Europ. J. Cancer* 4, 241-246 (1968).
45. Stryckmans, P.A., Chanana, A.D., Cronkite, E.P., Greenberg, M.L., Schiffer, L.M., Studies on lymphocytes X. Influence of extracorporeal irradiation of the blood on lymphocytes in CLL: Apparent correlation with RNA turnover. *Rad. Res.* 37, 118 (1969).

46. Theml, H., Die Therapie der chronischen lymphatischen Leukämie. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 79, 523 (1973).
47. Theml, H., Begemann, H., Die Bedeutung kinetischer und immunologischer Daten für ein pathomechanisches Verständnis und eine kritische Therapie von Lymphomen. In: Lymphozyt und klinische Immunologie. Hrsg: H. Theml und H. Begemann. Springer, Berlin - Heidelberg - New York 1975.
48. Theml, H., Trenel, F., Schick, F., Kaboth, W., Begemann, H., Kinetics of lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia: Studies using continuous H³-thymidine infusion in two patients. Blood 42, 623 (1973).
49. Thomas, E.D., Epstein, R.B., Eschbach, J.W., Prager, D., Bruckner, C.D., Marsaglia, D., Treatment of leukemia by extracorporeal irradiation. New Engl. J. Med. 273, 6 (1969).

Lebenslauf

Ich, Bianca Maria Helmbrecht, geb. Mailli, wurde am 10.9.1948 in München als Tochter des Gerichtsvollziehers Alfred Mailli und seiner Frau, der Ärztin Rosa Mailli geboren.

Von 1954 - 1958 besuchte ich in München die Volksschule am Bayernplatz, von 1958 - 1967 ebenfalls in München den Neusprachlichen Zweig des Städtischen Luisengymnasiums. Nachdem ich 1967 dort maturiert hatte, begann ich im selben Jahr mein Medizinstudium an der Ludwig Maximilians-Universität in München, legte hier 1968 das Vorphysikum und 1970 das Physikum ab. 1973 bestand ich mein Medizinisches Staatsexamen an der selben Universität mit "sehr gut".

Krankenpflegedienst und Famulatur leistete ich an der Universitätskinderklinik, am Kreiskrankenhaus Kelheim und im Schwabinger Krankenhaus ab.

Hier überließ mir Herr Prof. Dr. Begemann das Thema meiner Dissertationsarbeit, an der ich 1971 zu arbeiten begann.

Im September 1973 trat ich eine Stelle als Medizinalassistentin im Kreiskrankenhaus Kelheim an, wo ich nach 5 Monaten chirurgischer, 4 Monaten interner und 3 Monaten gynäkologischer Ausbildung, im Sept. 1974 - nach Erhalt der Approbation - die Interne Facharztausbildung begonnen habe. Ab Oktober 1975 werde ich diese am Oldenburgischen Landeskrankenhaus Sanderbusch fortsetzen.

Seit dem 16.1.1974 bin ich mit meinem Mann Johann Helmbrecht, der zur Zeit seine Medizinalassistentenzeit ableistet, verheiratet.

